



TITLE:

# 「ポーラログラフ」蛋白波による 尿膠質の研究

AUTHOR(S):

笹井, 外喜雄; 江川, 昌男; 熊原, 雄二; 速見, 春雄

---

CITATION:

笹井, 外喜雄 ...[et al]. 「ポーラログラフ」蛋白波による尿膠質の研究.  
京都大学化学研究所報告 1952, 29: 15-22

ISSUE DATE:

1952-06-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/74448>

RIGHT:

## 原 報

### 1. 「ポーラログラフ」蛋白波による尿膠質の研究

笹井外喜雄, 江川昌男, 黒原雄二, 速見春雄

#### Polarographic Studies on the Urinal Colloids

*Tokio Sasai, Masao Egawa, Yuji Kamahara and Haruo Hayami*

(K. Inoue Laboratory)

According to I. Tamm (Proc. Soc. Expl. Biol. & Med.; 74, 108, 1950), the activity of the human urine to inhibit the red blood cell agglutination by virus-action, are attributed to the existence of the mucoprotein. By means of their alcoholic precipitation method, we also have isolated from the normal urine the sample, which was soluble in water and in sulfosalicylic acid and was positive in Biuret and Molish's tests. Further we found that this substance was highly active in Donaggio test, the test showing the urinal activity as a colloid, and also significantly influenced the lability test of serum protein, such as Weltmann or Kürten's test. (Kürten, H. F.: Klin. Wschr., 18, 667, 1939). Therefore, the alcoholic precipitant of the urine are active colloids in the protection of protein solubility.

From these facts, we opine that the alcohol-precipitant of urine are identical to the mucoprotein and its nature can be examined polarographically, since it became apparent that the polarographic filtrate test of Brdicka (Klin. Wschr. 18, 305, 1939) represents the mucoprotein. (Winzler R. J. *et al.*: J. Clin. Invest. 27, 609, 1948).

First, we have demonstrated that the substance, which showed the polarographic protein wave in urine from the solution of cobaltic ammonium buffered, are all contained in the alcoholic precipitant of urine (Fig 2-3), while the colloid in the supernatant soluble fraction has merely an action as an interfering factor against the protein wave, and fortunately this interfering action does not influence the height of protein wave. (Fig. 6) Then, the relationship between the content of isolated mucoprotein and the wave-height was determined (Fig. 4), which was similar to the one obtained from serum protein, but different from

the letter because of the absence of the phenomenon, the so-called "Kreuzungseffekte" (Tropp, C. *et al.*: Z. physiol. Chemie, 262, 225, 1939) in urinal as well as in serum-mucoprotein. (Fig. 5) Therefore, we assume that two mucoproteins are identical. Finally, in the clinical investigation the increasing amounts of mucoprotein were found both from the serum and the urine in diseases (Tab. 1-2), especially in cases suffered from cancerous or acute-inflammatory diseases.

癌疾患や炎症等の病的状態の時、血液中に Sulfosalicyl 酸でおちない一種の蛋白體が增加してくる。之を「ポーログラフ」蛋白波によつて検査したのが「ブランク」癌反應と呼ばれているもので之ははじめ血清蛋白の分解産物と考えたがだんだん疑問がもたれる様になり近頃では Mucoprotein であることが大體確實とされるに至つた。之は蛋白體の代謝上<sup>1)</sup>に一つの重要な要素と思はれるので私達は血中 Mucoprotein の觀察の延長としてその尿中排泄をも併せ觀察する必要がおこつた。亦最近 Virus による赤血球凝集反應を抑制する因子として人尿が非常に強力であることがわかり且つその本態は Mucoprotein であるという I. Tamm の報告がある。之は Mucoprotein の一つの生理的意義を暗示したものとして興味深いのであるが、それ以外に私達の實驗の一つの據りかゝりとして、この報告にみられる尿 Mucoprotein という物質と私達が Polarograph で検出する尿蛋白波をだす物質と同一物質であるかどうかという問題を先づ決定し、ついで尿蛋白波の發現條件の分析とその性状をしらべ最後に臨床觀察の中からその意味を見つけてゆきたいというのが本實驗の目的とするところである。

## 實 験

### 1. 蛋白波の検査法

Cobaltamine のアンモニヤ、鹽化安門混合液のそれぞれの成分を厳密に一定にした溶液を基礎的試験液とし之に一定量の被検尿を加えて「ポーログラム」を感度  $\frac{1}{100}$ <sup>4) 5)</sup> にとる方法で、血清の濾液反應をしらべる手筈と全く同様であるから、文献をあげるに止める。

試験液の最終濃度は勿論一定でなければ定量的比較が出来ない。こゝでは私達は必要に應じて下記の2つの組成のものをを用いた。

1. A試験液 (0.001 M. Luteo 鹽, 0.1 M.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.8 M.  $\text{NH}_4\text{OH}$  混合液) 5.0cc + 被検尿 0.5cc.
2. B試験液 (0.002 M. Luteo 鹽, 0.2 M.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.4 M.  $\text{NH}_4\text{OH}$  混合液) 5.0cc + 5.0cc 尿稀釋液.

### 1. 尿蛋白波の定性的觀察

a) 健康人尿を順次に稀釋してとつた蛋白波系列を Fig. 1~I に示す。大體50倍稀釋以上有効な波がみつめられる。腎炎の蛋白尿を用いると (Fig. 1~II a), 極大が高く極少の低い波が得られ丁度血清蛋白をとつた時の波と同じ性格の波 (Fig. 5~I) が出るが之に Sulfosalicyl 酸を加

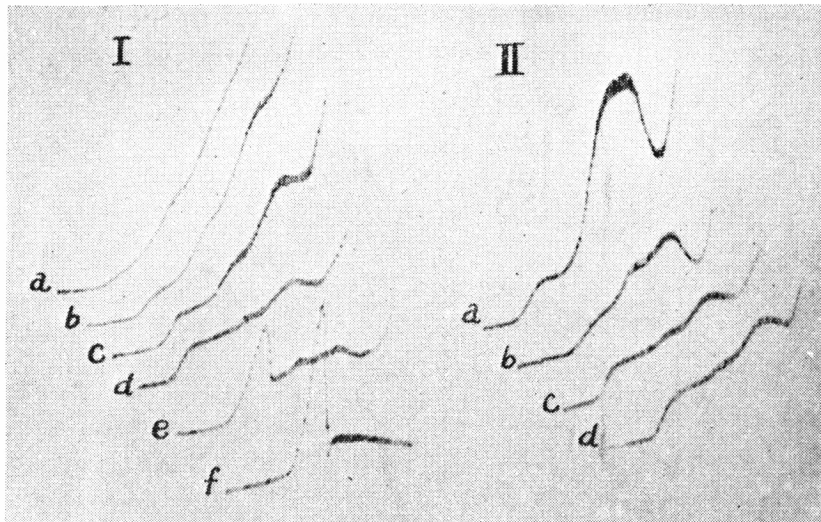


Fig. 1. Various polarograms of urinal protein wave.

I. a-e. Normal urine. Concentration of urine are: a=3/10, b=2/10, c 1/10, d 1/20, e 1/40. f. contained no urine.

II. a. Urine of albuminuria, whose concentration is 1/10. b. Deproteinized urine of a. Conc.=1/10. c. normal urine. d. Added to c with sulfosalicylic acid. Conc. is equal to c, 1/20.

Test solution=B (0.002m. luteo salt, 0.2m.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.4m.  $\text{NH}_4\text{OH}$  solution).

えて除蛋白した濾液を用いると波は低まり形は普通健康人尿に現れる波になる。健康尿では Sulfosalicylic 酸を加えても影響は見られない (Fig. 1~II c, d).

b) I. Tammによれば尿Mucoproteinは0.58M.食鹽水又はEthanolで沈澱する筈である。そこで蛋白を含め健康尿に之等の試薬を加え生ずる沈澱物を蒸留水にとかしその蛋白波を試験した、6倍量の純Ethanolを使用した時の沈澱物の波は食鹽水沈澱物のものより著明に高く (Fig. 2~b, d). 且つ前者では沈澱物を除いたEthanol上清液からは殆んど痕跡的な波しか得られなかつた。 (Fig. 2~c) つぎに Ethanol 沈降物から得られる波と原尿そのまゝから得られる波とを同一稀釋による二系列として比較したところ蛋白波の出現しうる最大の稀釋度は兩者でほぼ一致することがみとめられ

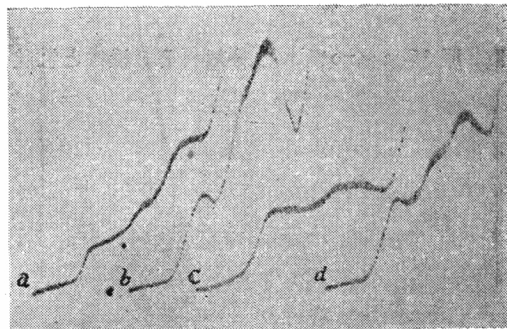


Fig. 2. Polarograms of extracted urinal components.

a. Starting natural urine, conc.=1/10.

b. Resolved alcoholic precipitant, conc.=1/6.

c. Upper natant of alcoholic solution, conc.=1/6.

d. Resolved NaCl precipitant, conc.=1/6.

Test solution : B.

た(Fig 3). 故に健康尿の蛋白波生起物質は全部 Ethanol でおちることが實證された. 即ち Tamm の Mucoprotein というものの中に蛋白波生起物質がすべて含まれている. 又 Fig. 2 及び 3 から

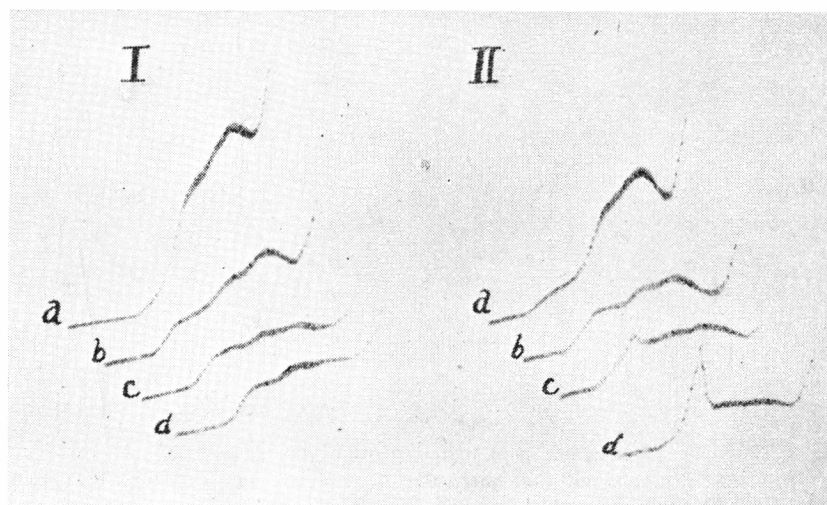


Fig. 3. Comparison of dilutional series of natural urine (I) and its resolved alcoholic precipitant (II).

a=3x, b=15x, c=30, d=50x diluted.

Test solution: B. G. S.:  $\frac{1}{100}$

明らかな様に分離したものの蛋白波は原尿のものよりも純粋な蛋白波に近い波を呈している. 之は尿中に蛋白波に干渉する物質が存在することを物語る事實で更に以下の追求を必要とする.

### Ⅲ. 尿 Mucoprotein の分離 (その操作と性状)

遠心沈澱により浮遊物を除去し, セロファン膜で48時間透析した健康尿800ccを60°Cで $\frac{1}{10}$ に濃縮し之に純 Ethanol 5倍量加う. 生ずる沈降物を再透析再沈澱させたものを取り凍結乾燥すると, やゝ吸湿性の灰白色粉末 350mg を得た. 之は水に可溶で Sulfosalicyl 酸でおちす飽和硫酸, タングステン酸によつておちる, 熱に對し安定で Biuret 反應は弱陽性 Molish 反應陽性であつた. 之の性質は Tamm の分離したものと一致しやはり Mucoprotein と思はれる. このほか私達は熱に對し比較的安定であるという性質からみて本物質は膠質保護作用が強いだろうと考えたので先づ Donaggio 反應を検査した. Donaggio 標準反應とは被勞制定に用いられる尿反應の一つでその原理は Methylene blue に「モリブデン」安門を加えた時に生ずる沈澱を抑制する尿の保護能力を試験する反應である. 之を本物質について測定したところ 10mg/dl 以上の濃度で有効な保護作用を示した. この價は今迄知られているもののうち最強力なものに屬する. そのほか, 本物質は血清膠質の不安定反應である Kürten (七條變法) 反應, Cadmium 反應等に對しても之が生理的範圍の量で有意義に影響する事を知つた. 即ち健康血清に分離 Mucoprotein を少量

加え、僅かにポーログラフ濾液反應 (Mucoprotein 量を示す) が陽性という程度、即ち添加前の波高41mmに對し添加後の波高58mmに止めたに拘らず Kürten 反應は陽性 (痛等に見られる) 傾向をおびるし、Cadium 反應は $R_7$ が $R_9$ に變化した。

#### IV. 分離 Mucoprotein の「ポーログラフ」蛋白波検査 (定量實驗)

a. 濃度～波高曲線. 蛋白波波高として第2極大波を目標にとつて濃度との關係をみると Fig 4 に示す様に Mucoprotein は血清蛋白の場合とよく似た一種の吸着曲線をなす事がわかつた. 従つて一定範圍内の定量が可能ということになる. 更に詳細に見ると、

b. 血清蛋白の波との比較. 同一條件でとつた血清蛋白の波高 (Fig. 4 の×印) と之と比較すると兩者間の差は比較的僅少でむしろ Mucoprotein の方が高い. この事は本物質 (Mucoprotein) は血清蛋白と同程度に Polarographic 活性であり、従つて Ethanol でおちるこの物質は相當純粹なものであらうと相像される、實際兩者の波形も、比較的高い濃度では殆んど一致している. 而るに濃度の比較的低い所では兩者の波形の相異は明瞭に出ている、(Fig. 5 I, II) 即ち血清蛋白では稀釋によつて I, II 波の所謂交叉現象が見られるが分離 Mucoprotein では之は見られない.  $Co^{++}$  の代りに  $Co^{++}$  の試薬を使用するとこの差は一層はつきりする. 一方血清の Sulfosalicylic 酸濾液に於ても、尿 Mucoprotein の態度と一致してかゝる交叉現象は認められなかつた. それ故血清濾液と尿 Muco-

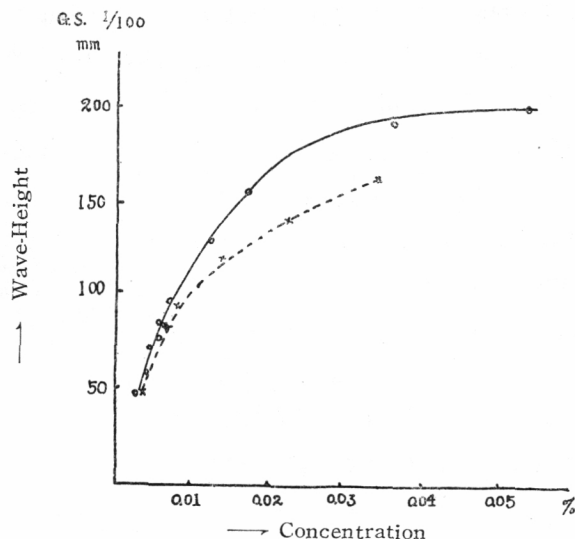


Fig. 4. Relationship between Wave-height and Concentration of the urinal mucoprotein (o—o) and the serum-protein (x.....x).

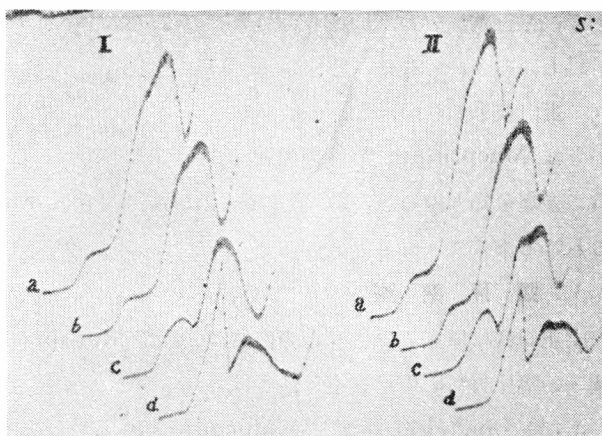


Fig. 5. Comparison of two series of protein waves. I represents the normal serum protein and II: the urinal mucoprotein. G.S.: 1/100. Test solution: B

protein とは「ポーログラフ」蛋白波によつても同一物質であると推定される。

なほ、尿 Mucoprotein は KOH 作用によつて波高の變化がみとめられない。この點は血清濾液の態度と相異なるが私達は血清の KOH 作用で濾液蛋白波波高の變化するのは血清蛋白の KOH 變性によつてもたらされる二次的變化だろうと考えている。

c. 原尿の波と分離 Mucoprotein の波との關係。すでに上記した様に尿 Mucoprotein はとり出すと血清蛋白の様に純粹な蛋白波となるので原尿そのまゝの波は何か干渉しているに違いない。いま分離した Mucoprotein に Sulfosolycyl 酸や其の他の鹽類を加えてみても、波は變化しない。而るに Mucoprotein を分離した時の殘液、即ち Mucoprotein 以外の尿の非透析性物質を含有する液を之に加えると、原尿の示す波と全く同一の波形に復元することが分つた。(Fig. 6 a, b) 而して幸いな

ことに、この様な干渉現象は Minimum の上昇として表現されるに止るか、或いは時として Cobalt 波と蛋白の第 1 極大とが癒合してくる(例えば Fig. 1~1a) だけで第 2 極大の波高には變化がないことが分つた。つぎに原尿に分離した Mucoprotein を添加すると蛋白波の形は原尿の波形のまゝであるが添加量に應ずるだけ波高が高まることを確かめた。(Fig. 6 c, d)

以上のことから私達は原尿のまゝで蛋白波をとれば、1) その波形からは Mucoprotein 以外の尿膠

質の多寡を知り得るし、2) 第 2 極大波の波高からは Mucoprotein を定量的に知ることが出来るわけである。

## V. 臨床觀察

上記の様に原尿そのまゝの蛋白質波波高が Mucoprotein の定量的觀察を可能にする。そこで個々の臨床材料の中に觀察をひろげた。

a. 尿 Donaggio 反應と尿 Mucoprotein 量との相關性。Fig. 7 は 70 例の Sample についての相關圖でその相關係數( $r$ )は 0.82 となり豫想通りの高い價を得た。しかし同時に Mucoprotein 以外の副次的條件の影響も當然考えられる。

b. 尿 Mucoprotein の疾患別觀察, Table 1 は除蛋白操作と尿量補正とを行つた一日尿の Mucoprotein

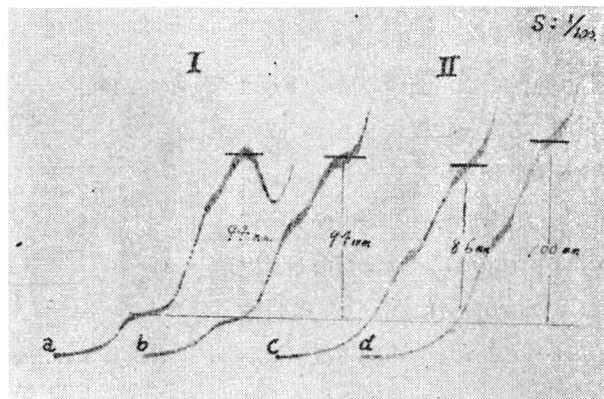


Fig. 6.

I. Interfering effect of polarographically inactive urine-colloid upon the wave of mucoprotein. (a changes to b.)

II. Additional effect of urinal mucoprotein upon the protein wave of natural urine. (c changes to d.)

Test solution: A. G.S. :  $\frac{1}{100}$

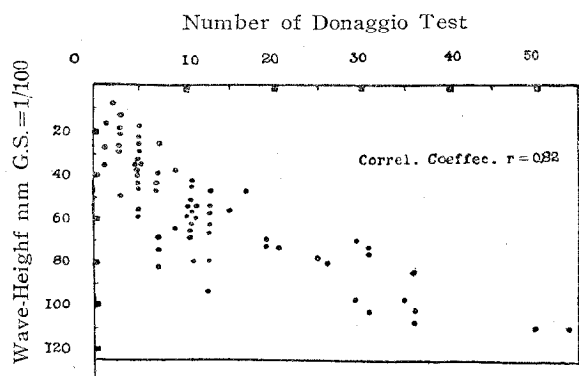


Fig. 7. Graph showing correlationship between polarographical wave-height of urinal mucoprotein and the number of Douaggio test in various diseases. Test solution: A.

protein 量を波高で比較したものである、之により急性炎症性疾患や癌等で多量の排泄があることが分る。又蛋白尿の存在とは無關係で腎疾患ではその成績はまちまちである。肝臓疾患でも非炎症性なら多くない。この様な結果は私達が血清濾液反應で得た結果と平行的である。

c. 血清と尿の Mucoprotein 比較 (Table 2)

そこで同一人同一日に尿及び血清 Sulfosalicyl 酸濾液を同時に觀察

Table 1. Polarographic values of Urinal Mucoprotein in diseases.

Disease	Albuminuria	Fever	Wave height in mm(G.S. 1/50)
Normal in 16 persons(male adults)	-	-	25.0~40.0 mean value 35.0
Neurasthenia	-	-	27.0
Filariosis	-	-	28.0
Cholelithiasis	-	-	30.0
Cholelithiasis	-	-	33.0
Peritonitis, reconvalesieuces)	-	-	34.0
Myasthenia	-	-	35.0
Cholelithirsis with jaundice	-	-	36.0
Hepatic tumeur with jaundice	-	+	39.0
Pyrolusstenosis	-	-	39.0
Hepatitis (jaundice)	-	÷	39.0
Gastric cancer	-	-	39.0
Hepatosplenomegaly	-	-	41.0
Glomerulonephritis	++	-	43.0
Icterus hemolytica	-	-	45.0
" (acute period)	++	+	92.5
Infiltration of lung	+	÷	47.5
Heiver cirrhosis	-	-	49.5
Cholangitis	-	+	50.0
Pulmonary tuberculosis	-	+	54.0
Chronic nephritis	+	-	56.5
Chronic nephritis	++	-	61.0
Cancer of liver	-	-	71.0
Pleuroperitonitis exsudativa	+	+	75.0



Pleuro-peritonitis	-	+	77.5
Pulmotary tuberculosis	-	+	87.0
Pulmotary tuberculosis	-	+	99.0

Table 2. Comparison of two polarographical values of seral and urinal mucoproteins in diseases.

Disease	Wave-Height in mm.	
	Urine	Serum
Neurasthenia	27.0	12.5
Liver cirrhosis	32.0	22.0
Hepatic tumeur	62.0	25.0
Pulmonary tuberculosis	67.0	92.0
Grawitz's tumeur	70.5	64.0
" "	58.0	44.5
Pulmonary tuberculosis	75.0	54.5
Nephritis	113.0	90.0

したところ、成績は少いが大體平行することが多い。平行しない例の追求にこそ今後興味の重點があると思う。

### 総 括

1). 健康人尿中蛋白波を出す物質は全部Ethanolでおち、その波は定型的蛋白波を示す等の事實から、蛋白波を出す物質は即 Ethanol 沈降物質即 Mucoprotein で

あろう、又原尿の蛋白波によつて、たゞちにその Mucoprotein 量を知ることが出来、同時に波の形から Mucoprotein 以外の嚢質の存在を知ることが出来る。

2). 尿 Mucoprotein は嚢質保護作用を有し Donaggio 反應の本質的部分であるほか、血清に對しても同様の作用を有するから血清不安定反應の一つの因子であらう。

3) 血清 Mucoprotein (Sulfosalicyl 酸濾液物質) と尿 Mucoprotein とは Polarogramm 上同様の性格であり臨床的にも両者は密切な相關性を有する。

### 文 献

- 1) Brdicka, R.: Klin. Wschr. 13, 305, 1939.
- 2) Winzler, R. J. et al.: J. Clin. Invest. 27, 609, 1948.
- 3) Tamm, I. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 74, 108, 1950.
- 4) Müller, O. H. et al.: Arch. Biochem. 15, 39, 1947.
- 5) 笹井：最近のポーログラフイー（館勇編）P. 50.
- 6) 佐藤：生體の科學，1號，37頁（昭24）.
- 7) Kürten, H. F.: Klin. Wschr. 13, 637, 1939.
- 8) 岩野：日新醫學，37卷，5號，（昭25）.
- 9) Jühling, L., Tropp, C. et al.: Z. physiol. Chem., 262, 225, 1939.

（昭和27年1月10日受理）